

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平3-188408

⑬ Int.Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成3年(1991)8月16日

G 02 B 21/06  
21/007246-2H  
7246-2H

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全10頁)

⑮ 発明の名称 走査型光学顕微鏡

⑯ 特 願 平1-328056

⑰ 出 願 平1(1989)12月18日

⑱ 発 明 者 井 場 陽 一 東京都渋谷区幡ヶ谷2-43-2 オリンパス光学工業株式会社内

⑲ 出 願 人 オリンパス光学工業株式会社 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

⑳ 代 理 人 弁理士 篠原 泰司 外1名

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

走査型光学顕微鏡

## 2. 特許請求の範囲

(1) 光源と、該光源から発した光を走査する走査光学系と、該走査光学系を射出した光を標本上に集光する対物レンズと、該標本を透過した光を受けてこの光を入射経路と同じ経路を返って前記標本に向けて戻す反射光学系と、前記標本上で再び集光してから戻ってきた光を前記対物レンズ及び前記走査光学系を介して受光する光電検出器と、を備えた走査型光学顕微鏡。

(2) 光源と、該光源から発した光を走査する走査光学系と、該走査光学系を射出した光を標本からずれた位置に集光する対物レンズと、該標本を透過した光を受けてこの光を前記標本上に集光する反射光学系と、前記標本上で集光してから戻ってきた光を前記対物レンズ及び前記走査光学系を介して受光する光電検出器と、を備えた走査型光学顕微鏡。

## 3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、走査型光学顕微鏡に関するものである。

(従来技術)

走査型光学顕微鏡は、光源を発した光を対物レンズを介して標本上に集光し、この集光点の反射光若しくは透過光を再び前記対物レンズと同一又は別の対物レンズを介して集光し、この集光点にピンホールを置いて該ピンホールを通過した光を光電検出し、標本像を得る装置である。但し、標本像を得る為には、標本上に作られる集光点を2次元的に走査する必要があり、走査には大きく分けて二つの方式がある。一つは標本を固定し、集光点を走査する方式であり、他の一つは集光点を固定し、標本そのものを走査する事で実質上集光点を走査したのと同じ効果を得る方式である。

まず、第10図を用いて、集光点そのものを走査する方式の走査型光学顕微鏡の原理を簡単に説明する。

## 特開平3-188408(2)

図中、1はレーザ光源、2はビームスプリッタ、3は光走査光学系、4は対物レンズ、5は標本、6はコリメータレンズ、7はピンホール、8は光電検出器である。

光源1を発した光は、ビームスプリッタ2で反射し光走査光学系3を通過して対物レンズ4に入射し、標本5上を走査する集光点を作る。集光点の光が標本5で反射し、再び対物レンズ4と光走査光学系3を逆進し、ビームスプリッタ2を通過してコリメータレンズ6へ向かう。この光束は光走査光学系3を往復したことになるので時間的にその進路は安定しており、その為コリメータレンズ6によって光軸上の一点に集光する。この集光点にピンホール7が配置されており、ピンホール7を抜けた光が光電検出器8で受光される。そして、光電検出器8から出力される電気信号を適当に処理する事で標本像が得られる。

次に、第11図を用いて、標本そのものを走査する方式の走査型光学顕微鏡の原理を簡単に説明する。第10図のものと比較すると、光装置光学

系3が無く、代わりに標本5が2次元走査ステージ9に載置されており、標本5自体が走査されるようになっている。その他の原理は、第10図を用いて説明した集光点そのものを走査する方式の走査型光学顕微鏡と同じである。更に、第12図を用いて、もう一つの標本そのものを走査する方式の走査型光学顕微鏡の原理を簡単に説明する。第11図のものと同じ原理で標本5に集光点を作り、走査は標本5自体が走査されるようになっている。しかし、標本5を反射した光ではなく透過した光を第2の対物レンズ10で受け、それによって光軸上に集光点を作る。この集光点の位置にピンホール7が配置されていて、後は上述の走査型光学顕微鏡と同じ原理で標本像が作られる。

(発明が解決しようとする課題)

ところが、第11図及び第12図を用いて説明した標本自体を走査する方式の走査型光学顕微鏡は、高分解能を得ようとするに極めて精度の高いステージ走査が必要となる。更に標本5の重さや大きさに制限が生じたり、走査時間が長くなると

いった欠点がある。

一方、第10図を用いて説明した標本上の集光点を走査する方式の走査型光学顕微鏡は、これら欠点は無いものの、第12図を用いて説明した(透過照明型の)走査型光学顕微鏡のように標本5を透過する光で像を作ることは出来ず、反射光で像を得ることしか出来ないという欠点がある。

又、第12図の走査型光学顕微鏡において、第一の対物レンズ4の前と第2の対物レンズ10の後に光走査光学系3を導入すれば、原理上は標本5を固定し、集光点自体を走査する方式の透過照明型の走査型光学顕微鏡が作れるが、二つの光走査光学系の同期を極めて厳密に取らなければならないことや、二つの対物レンズ4、10の倍率を極めて精度良く一致させなければならないこと等、技術的に極めて困難である。そのため、一般生物標本を観察する場合に透過照明により像を見たいという要求が強くある(即ち、生物標本においては、検体が2枚のガラス板間に適当な封入剤と共に挿入されたものが多く、このような標本では光

の反射率が悪く、顕微鏡観察を行う場合照明光を標本で反射させて観る方法では満足な像が得られないので、照明光を透過させて観察する必要があるにも拘らず、標本上の集光点そのものを走査し、透過光による像を得ることが出来る透過照明型の走査型光学顕微鏡は、現在実用化されていない。

本発明は、上記問題点に鑑み、固定された標本上を集光点自体が走査して像を作る方式でありながら、標本を透過してくる光による像の観察を可能にした走査型光学顕微鏡を提供することを目的としている。

(課題を解決するための手段及び作用)

本発明による走査型光学顕微鏡の一つは、光源と、該光源から発した光を走査する走査光学系と、該走査光学系を射出した光を標本上に集光する対物レンズと、該標本を透過した光を受けてこの光を入射経路と同じ経路を通過して前記標本に向けて戻す反射光学系と、前記標本上で再び集光してから戻ってきた光を前記対物レンズ及び前記走査光学系を介して受光する光電検出器と、を備えてい

## 特開平3-188408 (3)

ることを特徴としている。

即ち、これは、第1図に示した如く、第10図の走査型光学顕微鏡の標本5の下方に所定の光学系を付加したものになっている。この所定の光学系は、前側焦点位置が標本5の表面と一致する正レンズ等の適当なレンズ11とコーナークューブ等の反射鏡12とから構成されており、入射光束を入射時と全く同じ光路を逆進するように反射する働きを持っている。

従って、第10図を用いて説明した走査型光学顕微鏡と同様の原理で、対物レンズ4を射出した照明光束が、標本5の表面上に集光され走査される。この光束は標本5を透過し、前記所定の光学系に入射する。そして、この光学系で反射した光束は、再び標本5を下方から照明し、標本5の表面に集光点を形成して走査する。さらに、この光束は標本5を透過し、往路を逆進して行く。同一光路を逆進した光束は、第10図を用いて説明した如く、標本5上に作られた集光点の反射光束と全く同じ光路をたどるので、最終的には光電検出

器8で受光され、標本像が作られる。但し、この標本像は、標本5を透過してきた光によって作られている点が、第10図で説明した走査型光学顕微鏡と大きく異なり、本走査型光学顕微鏡は透過照明型として機能する。

本発明による走査型光学顕微鏡の他の一つは、光源と、該光源から発した光を走査する走査光学系と、該走査光学系を射出した光を標本からずれた位置に集光する対物レンズと、該標本を透過した光を受けてこの光を前記標本上に集光する反射光学系と、前記標本上で集光してから戻ってきた光を前記対物レンズ及び前記走査光学系を介して受光する光電検出器と、を備えていることを特徴としている。

即ち、反射光学系で反射した光が標本上で集光してさえすれば、必ずしも対物レンズを射出した光を標本上で集光させる必要はなく、かえって対物レンズを射出した光の集光点を標本上からずらすことによって標本面上での反射光を弱くし、観察像のコントラストを向上せしめることができ

る。

## 〔実施例〕

以下、図示した実施例に基づき本発明を詳細に説明する。

第2図は本発明による走査型光学顕微鏡の第1実施例の光学系を示している。

21はレーザー光源、22は正レンズ、23はその中心が正レンズ22の後側焦点位置に置かれたピンホール、24はその前側焦点位置がピンホールの中心位置に置かれた正レンズであって、これらがレーザー光源21からの光を平行光束にする光学系を構成している。

25は前記平行光束のS偏光成分のみを透過する直線偏光素子、26はS偏光成分を反射し且つP偏光成分を透過する偏光ビームスプリッタである。27は入射した光束の向きを紙面方向に偏光するガルバノメーターミラーや音響光学素子等の偏向素子、28、29は前者の後側焦点位置と後者の前側焦点位置とが一致するように配置されてアフォーカル光学系を構成している二つの正レン

ズ、30は入射した光束の向きを紙面と垂直な方向に偏向するガルバノメーターミラーや音響光学素子等の偏向素子、31、32は前者の後側焦点位置と後者の前側焦点位置とが一致するように配置されてアフォーカル光学系を構成している二つの正レンズであって、これらが偏光ビームスプリッタ26で反射されたS偏光成分から成る平行光束を平行光束のまま二次元的に走査する光走査光学系を構成している。33は後述の第1の対物レンズの入射端、34は第1の対物レンズ、35は第1の対物レンズ34の後側焦点面に表面が一致せしめられた標本である。尚、二つの偏向素子27、30は、正レンズ28、29から成るアフォーカル光学系に関して互いに共役関係にあり、更に偏向素子30と第1の対物レンズ34の入射端33は、正レンズ31、32から成るアフォーカル光学系に関して互いに共役関係にある。即ち、二つの偏向素子27、30と第1の対物レンズ34の入射端33の三者は、夫々互いに共役関係にある。従って、上記光走査光学系から射出する平

## 特開平3-188408(4)

行光束は入射瞳33の中心を軸としてその向きが二次元的に変化し、第1の対物レンズ34の作用により標本35の面に集光点を作りこれを二次元的に走査する。又、一般的に入射瞳33は第1の対物レンズ34の前側焦点面に一致しているので、上記集光点を作っている光束の中心を通る光線は、第1の対物レンズ34の光軸と平行である即ち標本35の面に対して垂直である。

36はその前側焦点面が標本35の表面に一致せしめられた第2の対物レンズであって、標本35の表面に集光点を作った光束は標本35を透過した後この第2の対物レンズ36により再び平行光束に変換されるようになっている。37は $1/4\lambda$ 板、38は $1/4\lambda$ 板37を透過した光束の中心光線が光軸をよぎる位置即ち第2の対物レンズ36の射出瞳位置と頂点Pが一致するように配置されたコーナークューブであって、これらが反射光学系を構成している。尚、仮にコーナークューブ38に入射する光線が標本35の面に対して垂直に入射している場合には、コーナークューブ

38の頂点Pは第2の対物レンズ36の後側焦点と一致していなければならない。従って、コーナークューブ38に入射し反射する光束は、第3図(A)に示した如く、入射光路と全く同じ光路を逆進することになる。尚、上記配置がずれていると、コーナークューブ38に入射し反射する光束の往路と復路は、第3図(B)に示した如くずれてしまう。又、 $1/4\lambda$ 板37を往復透過したS偏光の直線偏光光束は、 $1/4\lambda \times 2 = 1/2\lambda$ の位相差が与えられるので、P偏光の直線偏光光束に変換される。

39は偏光ビームスプリッタ26を透過してきた平行光束を集光せしめるコリメータレンズ、40はコリメータレンズ39の後側焦点位置(光軸上の集光点)に必要な応じて配置されたピンホール、41はピンホール40を通過した光束を受光する光電変換素子であって、光電変換素子41の電気信号は図示しない信号処理回路で処理されて標本像として可視化されるようになっている。

本実施例は上述の如く構成されているから、レ

ーザ光源21を発した光は正レンズ22によりピンホール23の中心に集光し、これを抜けた光束は正レンズ24により平行光束となり、そのうちのS偏光成分のみが直線偏光素子25を透過して偏光ビームスプリッタ26に入射する。次にS偏光成分のみから成る平行光束は偏光ビームスプリッタ26で反射され、偏光素子27から正レンズ32までで構成される光走査光学系により平行光束のまま二次元的に走査され、入射瞳33を通過した後正レンズ34により集光せしめられて標本35の面上に集光点を作りながら二次元的に走査される。一旦集光せしめられた光束は標本35を透過した後第2の対物レンズ36により再び平行光束に変換され、 $1/4\lambda$ 板37を透過した後コーナークューブ38にて反射される。コーナークューブ38で反射した光束は、入射光束が透過した光路と全く同じ光路を逆進し、 $1/4\lambda$ 板37を再透過した時P偏光成分のみから成る平行光束となり、第2の対物レンズ36により集光せしめられつつ標本35の背後から入射せしめられて標本

35の面上に集光点を作る。勿論、この時集光点は二次元走査される。そして、光束は、第1の対物レンズ34から偏光ビームスプリッタ26へと光路を逆にたどり、今度は偏光ビームスプリッタ26を透過した後コリメータレンズ39に入射してその後側焦点位置即ちピンホール40の中心に集光せしめられ、該中心を通過した光束が光電変換素子41に受光される。その後は、光電変換素子41の電気信号が図示しない信号処理回路で処理されて標本像として可視化される。

かくして、本実施例によれば、固定された標本35上を集光点自体が走査して像を作る方式でありながら、標本35を透過して来る光による像の観察が可能になる。

尚、ピンホール40の配置された走査型光学顕微鏡を一般に共焦点走査型光学顕微鏡と呼ぶ。この顕微鏡の特徴は公知であるが、効果のみを簡単に説明する。一般的光学顕微鏡では開口数の大きな対物レンズで観察するため焦点深度が極端に浅く、検体が厚いと観察される像は真に観察したい

## 特開平3-188408 (5)

検体の合焦像に合焦前後のぼけた検体像が重なってしまうので、実行的解像力が悪化する。しかし、この共焦点走査型光学顕微鏡では、合焦面だけが明るく観察でき、前後の像は暗黒になる特徴を持つので、薄い標本は勿論厚い標本であっても、極めて良好な解像力が得られ、生物標本を観察する上で非常に有効である。

ところで、第2の対物レンズ36の後側焦点位置は、コーナーキューブ38の頂点(P点)と一致させなければならないので、第2の対物レンズ36の下端面から比較的下方向へ遠く離れていなければならない。そこで、必要に応じて、第2の対物レンズ36の構成は、第4図に示すように、正、正の焦点距離を持つ第1群正レンズ36a、第2群正レンズ36bから成る第2群構成にすると良い。第1群正レンズ36aの前側焦点位置を標本35の表面の僅か下方に置き、第1群正レンズ36aの下方に標本35の表面との共役位置(Q点)を作る。第2群正レンズ36bの前側焦点位置はこの共役位置と一致させる。これによって、

2つの正レンズ36a、36b全系の前側焦点位置は標本35の表面に一致する。即ち、第2の対物レンズ36に求められる一つ条件が満足される。更に、この配置により第1群正レンズ36aの後側焦点位置(R点)は当然前記共役位置(Q点)よりも第1群正レンズ36a寄りになるので、第2群正レンズ36bによりこの共役位置(S点)が第2群正レンズ36bの後側焦点位置(Q'点)より下方に作られる。即ち、この位置が2つの正レンズ36a、36b全系の後側焦点位置(P点)であるが、この位置は第2群正レンズ36bの焦点距離を長くすることにより、2つの正レンズ36a、36b全系から容易に遠ざけることができる。このようにして、2群構成のレンズを用いることにより、第2の対物レンズ36に求められる2つの条件が全て満足できる。更に、第5図に示した如く、第2群正レンズ36bを負レンズ36b'と正レンズ36b''とから構成し、その後側焦点位置を一層後方へ移動させることにより、これらのレンズ全系の後側焦点位置の一層の

引き離しを行うことができる。又、これらのレンズ全系の後側焦点位置を同じとすれば、該レンズ全系をコンパクトに構成できる。

第6図は第2実施例の光学系の要部を示しており、第1実施例では標本35を通過し第2の対物レンズ36で作られた平行光束を逆送させる反射部材としてコーナーキューブ38を用いていたのに対し、本実施例ではコリメータレンズ42と平面鏡43とを組み合わせて用いている点が異なっている。コリメータレンズ42は、第2の対物レンズ36を出射する光束の中心光線が光軸をよぎる位置に該コリメータレンズ42の前側焦点位置が一致するよう配置してある。これにより、この中心光線は光軸と平行になるが、言い換えればこれは第2の対物レンズ36の射出瞳をコリメータレンズ42が無限遠方に投影したと言える。又、平面鏡43は、第2の対物レンズ36とコリメータレンズ42とに関して標本35の表面と共役になる位置に平面鏡43の反射面が位置するよう配置してある。これにより、標本35上に点像を作

りこれを透過してきた光束は、平面鏡43の表面に再び点像を作り反射する。しかも、その光束の中心光線は平面鏡43表面に垂直入射するので、第6図に示されるよう、反射光束は入射光束が通過したのと全く同じ光路を逆送し、第1実施例と同様標本35を背後から透過照明する。もし、第1の対物レンズ34を出射する光束の中心光線が標本35の表面を垂直に透過している場合は、コリメータレンズ42を、その前側焦点位置が第2の対物レンズ36の後側焦点位置に一致するよう配置すれば良い。尚、1/4λ板37の働きは第1実施例の場合と全く同じである。

又、本実施例におけるコリメータレンズ42と平面鏡43とを第7図に示した如く一枚の平凸レンズ43'で構成することも可能である。即ち、第7図に示した平凸レンズ43'は、凸面である第1面43'aが正の屈折力を持つ即ち第6図のコリメータレンズ42と同一の作用を有し、平面である第2面43'bにはアルミの薄膜がコーティングされていて第6図の平面鏡43と同一の作

## 特開平3-188408 (6)

用を有しているの、コリメークレンズ42と平面鏡43の両方の作用を兼ねることになる。従って、より簡単な構成で第6図と同様に透過照明を行うことが可能である。

第8図は第3実施例の光学系の要部を示しており、第1実施例では標本35を透過し第2の対物レンズ36で作られた平行光束を逆進させる反射部材としてコーナークューブ38を用いていたのに対し、本実施例では凹面鏡44を用いて、その反射面に第2の対物レンズ36による光の収束点を一致させている点が異なっている。凹面鏡44はその反射面が第2の対物レンズ36に関して標本35の表面と共役になる位置に配置され、その反射面の曲率は第2の対物レンズ36を出射する光束の中心光線が光軸をよぎる位置即ち第2の対物レンズ36の射出瞳位置36aに曲率半径Rの中心が一致するよう選択されている。これにより、標本35上に点像を作りこれを透過してきた光束は、凹面鏡44の表面に再び点像を作り反射する。しかも、その光束の中心光線は凹面鏡44の表面

に垂直入射するので、第8図に示されるように、反射光束は入射光束が通過したのと全く同じ光路を逆進し、第1実施例と同様標本35を背後から透過照明する。もし、第1の対物レンズ34を出射する光束の中心光線が標本35の表面を垂直に透過している場合は、凹面鏡44の曲率中心が第2の対物レンズ36の後側焦点位置に一致するように、その曲率を選択すれば良い。尚、1/4λ板37の働きは第1実施例の場合と全く同じである。

以上述べてきた3つの実施例では、標本35の表面からの反射光が光電変換素子41に入射し、標本35の透過観察像のコントラストを低下させる不具合を防止するためあって、直線偏光素子25、偏光ビームスプリッタ26、1/4λ板37を用いているが、これらを用いずともコントラストの低下を防止出来る構成がある。それは、何れの実施例においても、標本35の表面以降の光学系を多少光軸に沿って又は光軸から離れるように移動することによってなされる。

第9図は第4実施例として、第2実施例においてそのことを実施した例の光学系の要部を示している。即ち、第1の対物レンズ36を出射し作られる点像の位置は、標本35の表面ではなく、そこから上下にずれた位置に作られると共に、平面鏡43で反射し標本35を背後から照明する点像が標本35の表面に結像するようにしている。このようにすることで、標本35の表面を上から下に透過する照明光束の光束密度は大きく低下し、よってその標本35の表面上での反射光による前記コントラストも実質上問題とならないレベル迄低減される。このことは、共焦点走査型光学顕微鏡の特徴からも理解できる。

尚、第1の対物レンズ34を出射した光束の点像位置とピンホール23とは、その間の光学系に関して共役である必要があり、標本35の表面とピンホール40もその間の光学系に関し共役である必要があるの、本実施例のように平面鏡43の位置をずらす時には、それに応じてピンホール23又は40の位置も光軸に沿って多少ずらす必

要がある。

以上、本発明による透過照明型の走査型光学顕微鏡について説明して来たが、本発明による走査型光学顕微鏡に共通して言える事は、容易に反射照明型の走査型光学顕微鏡としても使えることである。例えば、第2の対物レンズ36をはねのけるかその位置を下方又は上方に大きく移動してコーナークューブ38の反射光が正しく逆進回来なくなってしまうと共に、第1の対物レンズ34の直前に1/4λ板37と同様の働きを持つ1/4λ板を挿入して、標本35の表面からの反射光束がP偏光光束として偏光ビームスプリッタ26を効率よく透過出来るように構成すれば良い。

## 〔発明の効果〕

本発明による走査型光学顕微鏡は、固定された標本上を集光点自体が走査して像を作る方式でありながら、標本を透過して来る光による像の観察が可能であるという実用上重要な利点を有している。

## 4. 図面の簡単な説明

特開平3-188408 (7)

第1図は本発明による走査型光学顕微鏡の光学系の概念図、第2図は第1実施例の光学系を示す図、第3図は第1実施例のコーナークューブの作用原理を示す図、第4図及び第5図は夫々第1実施例の変形例の光学系の要部を示す図、第6図は第2実施例の光学系の要部を示す図、第7図は第2実施例の光学系の変形例の要部を示す図、第8図は第3実施例の光学系の要部を示す図、第9図は第4実施例の光学系の要部を示す図、第10図乃至第12図は夫々各従来例の光学系の概念図である。

1, 21……レーザー光源、2……ビームスプリッタ、3……光走査光学系、4……対物レンズ、5, 35……標本、11……レンズ、12……反射鏡、22……正レンズ、23, 40……ピンホール、24, 28, 29, 31, 32……正レンズ、25……直線偏光素子、26……偏光ビームスプリッタ、27, 30……偏向素子、33……入射瞳、34……第1の対物レンズ、36……第2の対物レンズ、37……1/4波板、38……

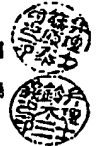
コーナークューブ、39, 42……コリメータレンズ、41……光電変換素子、43……平面鏡、43'……平凸レンズ。

代理人

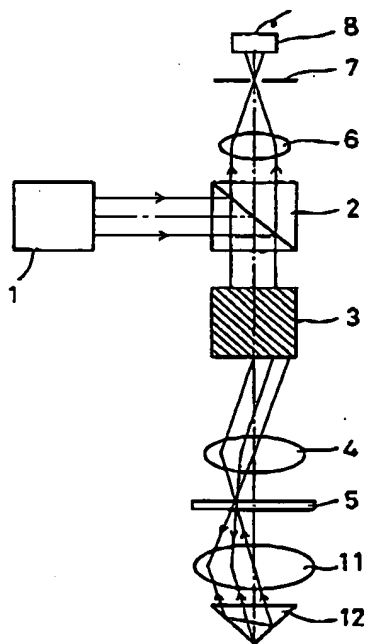
藤原 泰 司

代理人

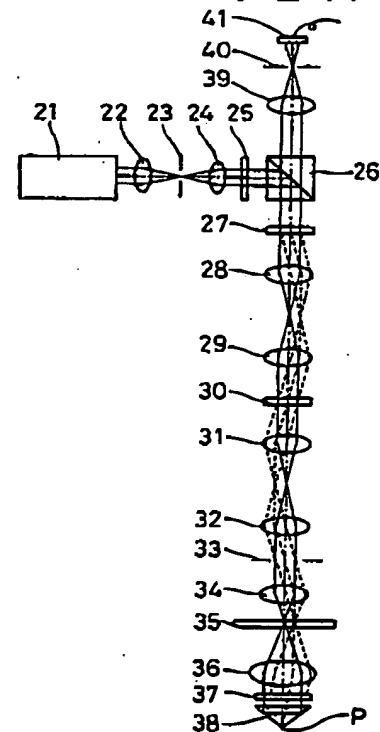
鈴木 三 義



才 1 図

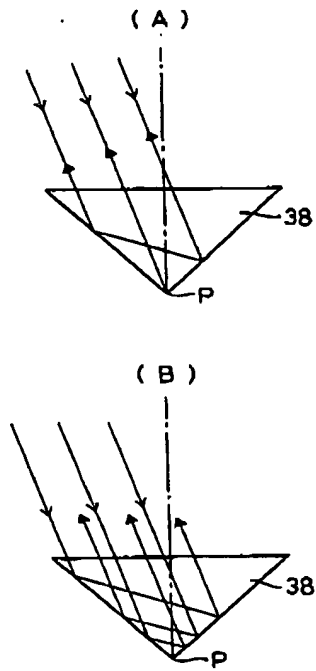


才 2 図

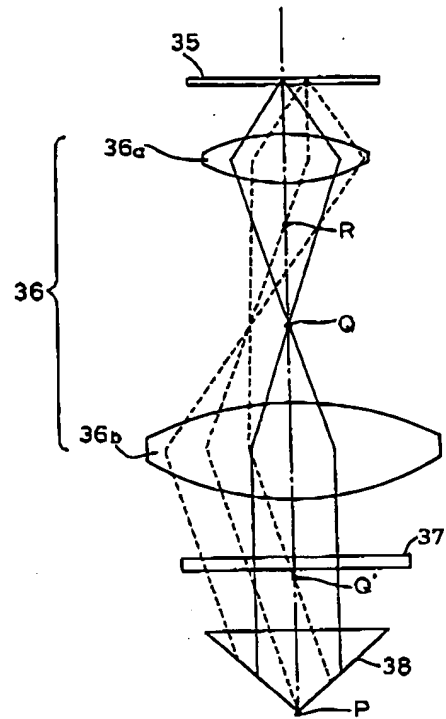


特開平3-188408 (8)

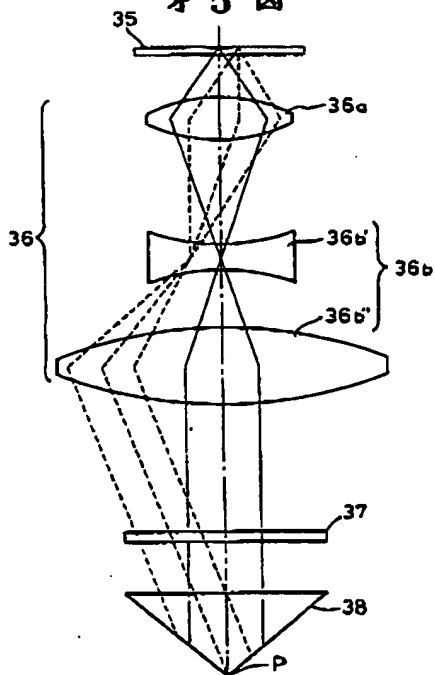
才 3 圖



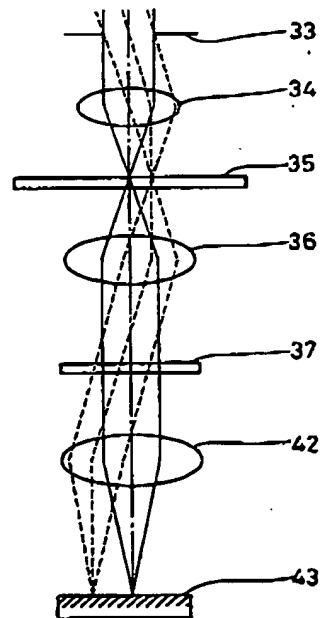
才 4 圖



才 5 圖



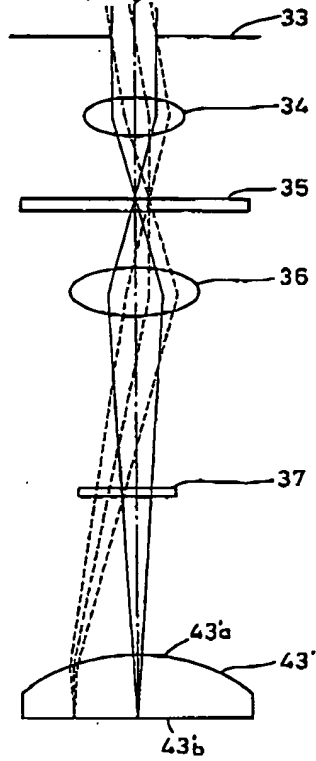
才 6 圖



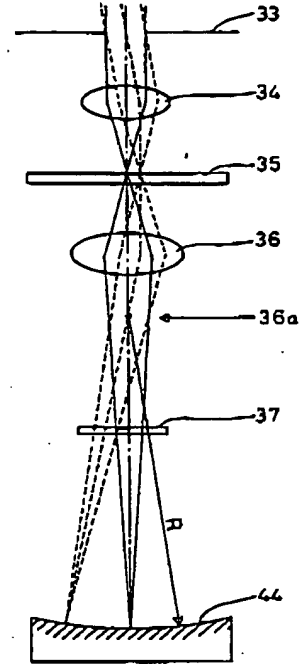


特開平3-188408 (9)

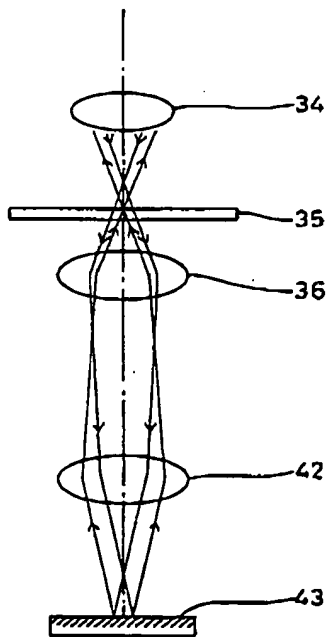
才 7 図



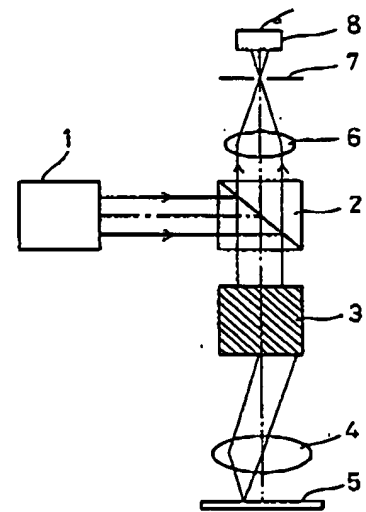
才 8 図



才 9 図



才10 図



特開平3-188408 (10)

才12 図

才11 図

